

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität

Frankfurt am Main

Direktor: Prof. Dr. F. Hoff

Untersuchungen über die Konservierung von
Thrombocyten mittels IAG und Prednison.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Medizin
der hohen medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Otto Schwemmer
aus Ansbach

Frankfurt/Main. 1962

1963

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität

Frankfurt am Main

Direktor: Prof. Dr. F. Hoff

Untersuchungen über die Konservierung von
Thrombocyten mittels IAG und Prednison.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Medizin
der hohen medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Otto Schwemmer
aus Ansbach

Frankfurt/Main. 1962

Dekan: Prof.Dr. J. Frey
Referent: Prof.Dr. H. Fischer
Koreferent: Prof.Dr. J. Frey
Mündliche Prüfung: 22.11.1963

Untersuchungen über die Konservierung von Thrombocyten
mittels IAG und Prednison.

Für die Blutstillung sind drei Mechanismen unerlässlich:
Ein intaktes Blutgerinnungssystem, eine normale Gefäßfunktion
und eine normale Funktion der Thrombocyten. Fehlt einer dieser
drei Faktoren, so kommt es nach Verletzungen oder auch spontan
zu einer gesteigerten Blutungsneigung - zu einer hämorrhagischen
Diathese. Die Thrombocyten sind am Gerinnungsvorgang selbst
beteiligt durch Abgabe des Thrombocytenfaktors 3 -
- eines Phospholipids, - der zusammen mit plasmatischen Faktoren
für die Bildung der Blutthrombokinasen, oder wie es in den
letzten Jahren genannt wird, für das Intrinsic-System der Blut-
gerinnung notwendig ist. Daneben sind weitere Plättcheninhalts-
stoffe bekannt, die in den Gerinnungsvorgang eingreifen können.
So beschleunigt der Thrombocytenfaktor 1 die Umwandlung von
Prothrombin in Thrombin, während der Plättchenfaktor 2 ein
Accelerator der Fibrinogenumwandlung in Fibrin ist. Der Plätt-
chenfaktor 4 neutralisiert die Wirkung von Heparin.

Die Beziehungen zwischen Gerinnselretraktion und Hämostase
sind noch nicht völlig bekannt. Die Retraktion ist jedoch eine
Funktion der Thrombocyten.

FONIO (1) nahm an, daß das Hyalomer der Thrombocyten für die
Retraktion entscheidend sei.

In den letzten Jahren wurde von LÜSCHER und GAILLAND (2 - 3)
ein dem Aktomyosin der Muskelzelle sehr ähnlicher Eiweißkörper
entdeckt, der als kontraktiles Protein bzw. als Thrombosthenin
bezeichnet worden ist. Neben diesem Eiweißkörper ist Energie
in Form der Adenosintriphosphorsäure für die Retraktion not-
wendig. So haben GROSS und Mitarbeiter (4) bei der Untersuchung
des Energiestoffwechsels der Thrombocyten 1959 darauf hinge-
wiesen, daß der Gehalt der Thrombocyten an energielieferndem
ATP etwa 150 mal höher ist als der ATP-Gehalt der Erythrocyten,
bezogen auf das Gesamtprotein der Zellen.

BREDDIN und DONALIS (5) fanden in zellfreien Plättchenextrakten einen Faktor, der die Fibrinfestigkeit eines thrombocytenarmen Plasmas im Thrombelastogramm deutlich steigerte; (Fibrinfestigkeitsfaktor). Vielleicht ist dieser Faktor identisch mit dem von Lüscher beschriebenen Thrombosthenin.

Neben dem Einfluß auf den Gerinnungsvorgang kommt den Thrombocyten jedoch auch eine entscheidende Rolle bei der primären Blutstillung zu. Nach Gefäßverletzungen bildet sich in wenigen Sekunden ein weißer Abscheidungsthrombus, (Clou haemostatic - Roskam), der zunächst die Blutung stillt, und erst später wird dieser Thrombocytenpfropf durch den Gerinnungsvorgang verstärkt und ergänzt. Die Vorgänge, die sich dabei im Einzelnen an der verletzten Gefäßwand abspielen, sind noch nicht völlig erforscht.

Beim Fehlen der Thrombocyten kommt es zum Auftreten einer hämorrhagischen Diathese, die besonders durch petechiale Hautblutungen, aber auch durch Blutungen in die Schleimhäute, in die Organe und auch ins Gehirn gekennzeichnet sind. Ähnliche hämorrhagische Diathesen kommen auch bei normaler Thrombocytenzahl bei Störungen der Thrombocytenfunktion vor. Die erblichen Thrombasthenieformen sind lange bekannt. Neuerdings wird ein Mangel an bestimmten Fermenten (Adenosintriphosphat, Pyruvatkinase, Fermente der Glykolyse und des Zitronensäurezyklus, - GROSS und Mitarbeiter 4 -) angenommen. Auch bei bestimmten Bluteiweißveränderungen, so bei Makroglobulinämien wurden Funktionsstörungen der Thrombocyten mit hämorrhagischen Diathesen beschrieben. BREDDIN (6) wies auf die Häufigkeit thrombocytär bedingter hämorrhagischer Diathesen bei Lebererkrankungen hin.

Die Beziehungen zwischen der Thrombocytenfunktion und den Auftreten petechialer Herde ist noch nicht sicher bekannt. Es handelt sich hier offenbar um einen gefäßabdichtenden Einfluß der Thrombocyten. Bei den meisten dieser Patienten mit einer Thrombasthenie findet sich eine Störung der Gerinnselretraktion.

Nach R.JÜRGENS (7) soll die abdichtende Wirkung an den Kapillärwänden durch anhaftende Thrombocyten an der Endotheloberfläche und Verklebung mit der Interzellulärsubstanz zustande kommen.

Die kritische Plättchenzahl, bei der es zu hämorrhagischen Diathesen kommt, wird mit 30 000 - 40 000 angegeben. Auch in vitro läßt sich eine eindeutige Beziehung zwischen der Anzahl der Plättchen und dem Ausmaß der Retraktion oder der Kurvenbreite im Thrombelastogramm nachweisen.

Wir sehen also, daß es sowohl bei einer Verminderung der Thrombocytenfunktion als auch der Plättchenzahl zu hämorrhagischen Diathesen kommt.

Es erhebt sich nun die Frage, ob es möglich ist, Blutungen, welche durch eine Verminderung der Plättchenzahl oder der Plättchenfunktion hervorgerufen werden, durch Transfusion von Thrombocyten im Sinne einer Substitutionstherapie zu behandeln. Um dabei einen hämostyptischen Effekt zu erzielen, sind allerdings sehr große Thrombocytenmengen notwendig. Will man diese maximale Anzahl von Thrombocyten mittels normaler Vollblutkonserven zuführen, so kommt es dabei unweigerlich zu einer erheblichen Volumenbelastung des Kreislaufes. Außerdem geht bei der üblichen Herstellung und Transfusion von Blutkonserven eine sehr große Anzahl von Thrombocyten rasch zu Grunde. Eine Tatsache, die auf die große Zerfallsbereitschaft der Plättchen zurückzuführen ist.

Will man also thrombocytär bedingte hämorrhagische Diathesen durch Transfusion von qualitativ und quantitativ optimalen Thrombocyten behandeln, so kommt man mit gewöhnlichen Vollblutkonserven nicht zum Ziel. Um eine Volumenbelastung zu verhindern, sind viele Thrombocyten in wenig Flüssigkeit, also Thrombocytenkonzentrate notwendig. Die Herstellung derselben soll mit der geringst möglichen mechanischen und biochemischen Schädigung einhergehen.

Von mehreren Autoren wurde in den letzten Jahren versucht, Thrombocytenkonserven herzustellen, die über eine gewisse Zeit gelagert werden konnten und die auch klinisch eine gewisse Brauchbarkeit hatten. STEFANINI und DAMESHEK (8) berichteten 1953 über die Konservierung und Transfusion von Thrombocyten. Untersucht wurde der hämostyptische Effekt und die Überlebensdauer der Thrombocyten bei Patienten mit einer Thrombocytopenie. Dabei erwies sich die direkte Transfusion von Polycythämikerblut unter Verwendung von silikonisierten Übertragungsgeräten als die wirkungsvollste Methode. Die Überlebensdauer beim Empfänger betrug dabei etwa 4 - 5 Tage. Etwas weniger wirkungsvoll war die Transfusion von Polycythämikerblut, das mittels silikonisierter Gefäße bei Verwendung von ACD oder EDTA als Antikoagulans abgenommen worden war. Plättchenkonzentrate, welche durch Zentrifugieren und Resuspension im eigenen Plasma oder isotonischen Lösungen hergestellt wurden, zeigten wohl nach der Transfusion eine kurze Überlebensdauer bei thrombocytopenischen Empfängern, der hämostyptische war aber immer noch sehr bemerkenswert.

Auch MATTHES und SICKINGER (9) halten die Verwendung von Polycythämikerblut, bei welchem durch Zentrifugieren die ohnehin schon hohe Plättchenzahl pro cmm noch erheblich gesteigert werden kann, für sehr zweckmäßig. Es stehen jedoch nicht immer blutgruppengleiche Polycythämiker zur Verfügung; eine Tatsache, welche die praktische Anwendung von Polycythämikerblut bei der Herstellung von Thrombocytenkonzentraten wesentlich einschränkt.

Im Gegensatz zu den oben genannten Autoren rät GROSS (10) von der Übertragung von Polycythämikerblut grundsätzlich ab. Als Begründung wird vor allem ein funktioneller Defekt der Polycythämikerthrombocyten angegeben.

Es wurde daher auf verschiedene Art und Weise versucht, brauchbare Thrombocytenkonzentrate aus Normalblut herzustellen.

Eine Anreicherung von Thrombocyten kann einmal durch langsames Zentrifugieren erreicht werden, wobei die schweren Erythrocyten und Leukocyten ausgeschleudert werden und das überstehende thrombocytenreiche Plasma abgesaugt werden kann.

Bei einem von MATHES und SICKINGER (9) angegebenen, nach Minor und Burnett modifiziertem Verfahren wird die Sedimentation durch Zusatz hochmolekularer, kolloidaler Lösungen erreicht. Anschließend wird das plättchenhaltige Plasma abgesaugt und durch Zentrifugieren eine Sedimentation der Thrombocyten erreicht. Als hochmolekulare Lösungen kommen dabei Dextranfraktionen zur Anwendung.

Außer der eigentlichen Herstellung eines Thrombocytenkonzentrates spielt dessen Konservierung eine entscheidende Rolle für die praktische Anwendung.

Wird ein Thrombocytenkonzentrat auf Bestellung von einer Blutbank hergestellt, das heißt kommt es innerhalb weniger Stunden zur Übertragung des Konzentrates, so genügt es, aus ganz frischen Normalblutkonserven durch Zentrifugieren eine Plättchenanreicherung zu gewinnen. Das Hinzufügen eines besonderen "Konservierungsmittels" ist dabei überflüssig. Es kommt wohl durch thermische und mechanische Schädigungen, vor allem durch das Zentrifugieren, zu einem zahlenmäßigen Abfall der Thrombocyten. Trotzdem ist ein hämostyptischer Effekt eines solchen Thrombocytenkonzentrates bei gezielter Anwendung, z.B. vor oder während Operationen bei Patienten mit einer Thrombocytopenie sicher zu erwarten.

Es bleibt also noch das Problem der Thrombocytenkonservierung im Hinblick auf langlebige Thrombocytenkonzentrate.

Bevor darauf näher eingegangen wird, soll noch kurz die Frage der Thrombocytensubstitution im Hinblick auf den Empfänger erwähnt werden. Der Erfolg einer Thrombocytentransfusion hängt nicht alleine von der Güte und der Anzahl der transfundierten Plättchen ab.

Bei Thrombopenien, die Antikörper bedingt sind, ist unter Umständen eine hämostyptische Wirkung der transfundierten Plättchen nicht zu erwarten, wegen der sehr begrenzten Überlebensdauer beim Empfänger. Auch eine schädliche Wirkung einer derartigen Übertragung erscheint möglich.

Angeregt durch Untersuchungen durch FISCHER und Mitarbeiter (11) wollten wir in dieser Arbeit untersuchen, mit welchen Konservierungsmitteln und über welchen Zeitraum Thrombocyten funktionstüchtig gehalten werden können. Zu diesem Zwecke stellten wir aus frischen Blutkonserven durch Zentrifugieren Thrombocytenkonzentrate her, versetzten sie je nach Versuch mit einem bestimmten Konservierungsmittel und prüften sofort sowie nach Ablauf von 1 - 8 Tagen Plättchenzahl und Plättchenfunktion.

Methodik der durchgeführten Untersuchungen:

Herstellung der Thrombocytenkonzentrate:

Blutentnahme in silikonisierte Vakuumflaschen, in welchen sich je nach Versuch entweder 100 ccm 3,8%iges Na-Citrat, ACD oder 0,1%iges Komplexon (EDTA) befand. Nach Entfernung des Gummiverschluß' wurde das Blut in vier große, ebenfalls silikonisierte Zentrifugengläser von 8 - 9 cm Durchmesser gegossen und 6 Minuten bei 2 500 U/min zentrifugiert. Das überstehende thrombocytenreiche Plasma wurde abgesaugt und 12 - 15 Minuten bei 3 000 U/min in der Kühlzentrifuge bei 4°C zentrifugiert, wiederum unter Verwendung von silikonisierten Gläsern. Die Thrombocyten befanden sich als rahmiger Satz am Boden des Glases. Anschließend Zählung der Thrombocyten nach vorsichtigem Abgießen des überstehenden thrombocytenarmen Plasmas und Aufschütteln in physiologischer NaCl-Lösung.

Thrombocytenzählung:

Kammerzählung nach Feissly-Lüdin.

In eine trockene Erythrocytenpipette wird das Thrombocytenkonzentrat bis zur Marke 0,5, anschließend Kokain-Lösung (Kokain-chlorhydrat 3,0; Natriumchlorid 0,4; Aqua dest. 100,0) bis zur Marke 101 aufgesaugt. Dann 1 Minute drehen und umschütteln. Anschließend wird 20 Minuten lang die Hämolyse in der Pipette abgewartet. Danach wird eine Zählkammer gefüllt und diese 20 Minuten zum Absetzen der Thrombocyten in eine feuchte Kammer gebracht. Anschließend wird im Phasenkontrastmikroskop die ganze Kammer ausgezählt und der gefundene Wert mit 2 000 multipliziert. (Verdünnung 200fach, Inhalt der Kammer $\frac{1}{100\text{mm}}$).

Messung der Retraktion: Methode nach Fonio, Bucher, Benthous.

Im Wasserbad von 37°C werden in ein nicht silikonisiertes Teströhrchen von etwa 1,2 cm ϕ , welches 1,0 ml thrombocytenfreies Citratmischplasma und 3,0 ml physiologische NaCl-Lösung enthält, 1,0 ml des Thrombocytenkonzentrates einpipettiert. Anschließend werden 1 ml M/40 CaCl_2 -Lösung und 0,1 ml Thrombinlösung (40 E pro ml) hinzugefügt und das Gemisch durch 2maliges Umkippen durchgeschüttelt. Nach zurückstellen in den Wasserbadständer wird das Gerinnsel durch mehrmaliges, ruckartiges Drehen um die Längsachse zwischen Daumen und Zeigefinger von der Glaswand gelöst. Nach 2 - 3 Stunden kann die Retraktion gemessen werden. Dazu wird das Gerinnsel mit einer Pinzette vorsichtig aus dem Teströhrchen entfernt und die Menge der ausgepreßten Flüssigkeit in einem Meßzylinder festgestellt und in % umgerechnet. Eine 100%ige Retraktion entspräche einer ausgepreßten Flüssigkeitsmenge von 6,1 ml. Dieser Wert kann natürlich nicht erreicht werden. Aber mit frischen Thrombocyten kann eine 90 - 95%ige Retraktion gut erreicht werden. Dieser Wert entspricht einer ausgepreßten Flüssigkeitsmenge von 5,5 - 5,7 ml.

Thrombelastographie nach HARTERT:(12)

Mit dem Thrombelastographen wird die während des Gerinnungsvorganges sich ändernde Festigkeit des auftretenden Blutgerinnsels in Form einer Scherelastizitätskurve laufend registriert. In ein silikonisiertes Röhrchen fügt man zu 0,5 ml thrombocytenfreiem Plasma 0,2 ml Thrombocytenkonzentrat und 0,1 ml M/10 CaCl_2 und vermischt durch kurzes Schütteln. Mit 0,4 ml dieses Gemisches wird eine Küvette des Thrombelastographen gefüllt. Anschließend wird in der üblichen Weise der Stempel in die Flüssigkeit eingetaucht, mit Paraffin luftdicht überschichtet und der Thrombelastograph in Gang gesetzt.

Herstellung der Thrombocytenkonserve:

Nach Feststellung der Thrombocytenzahl im Thrombocytenkonzentrat (Herstellung desselben siehe oben) werden 5 ml des Konzentrates mit 5 ml Konservierungsmittel zusammen in ein silikonisiertes Röhrchen gegeben. Dieses wird im Kühlraum bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt.

In diesen Konserven wurden dann sofort und im Abstand von jeweils einigen Tagen die Zahl und die Funktionstüchtigkeit der Thrombocyten festgestellt.

Die Thrombocytenzahl stellten wir fest, um den zahlenmäßigen Abfall der Plättchen in Abhängigkeit von der Aufbewahrungszeit zu prüfen.

Wie auch andere Autoren - HARTMANN und CONLEY - (13) hielten wir den Retraktionstest für die beste Methode, die Funktionstüchtigkeit der Thrombocyten festzustellen. Dabei konnten wir nicht immer eine Beziehung zwischen Thrombocytenzahl und Ausmaß der Retraktion finden. Diese war bei einigen mehrere Tage alten Thrombocytenkonserven auch vom Konservierungsmittel abhängig. Wir werden darauf bei der Besprechung unserer Ergebnisse noch einmal zurückkommen.

Zur weiteren Prüfung der Funktionstüchtigkeit der Thrombocyten bedienten wir uns bei einem Teil der Versuche der Thrombelastographie. Daß frische Thrombocyten sowohl die Reaktionszeit als auch die Kurvenbreite im Thrombelastogramm positiv beeinflussen, zeigt die Abbildung 1. Einem 18 Tage alten Blutkonserven-Plasma wurden frische Thrombocyten zugefügt.



Abb. 1 a

Reaktionszeit $r = 6'15''$
 Th.bildungszeit $k = 8'$
 Max.amplitude $ma = 31 \text{ mm}$

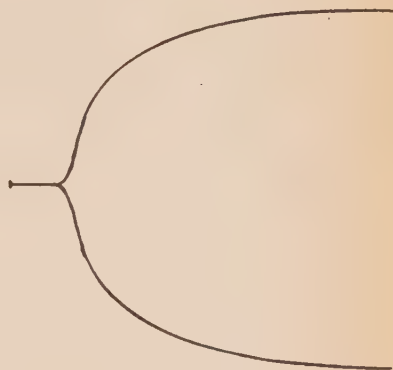


Abb. 1 b

$r = 5'$
 $k = 30''$
 $ma = 65 \text{ mm}$

Die Abbildung 1a zeigt das TEG eines 18 Tage alten Blutkonserven-Plasma. Das TEG Abb. 1b wurde mit dem gleichen Plasma unter Zusatz von 0,05 ml Thrombocytenkonzentrat hergestellt.

Vor Abschluß der Untersuchungen erkannten wir, daß die Prüfung der Ausbreitungsfähigkeit der Thrombocyten (Methode nach Marx in der Modifikation nach Breddin) bei Anwendung silikonisierter Objektträger die empfindlichste Meßmethode für die Funktionsprüfung von Thrombocytenkonserven darstellt.

Konservierungsmittel:

Als Konservierungsmittel verwendeten wir physiologische NaCl-Lösung, Macrodex 6 %ig, ATP, eine Kombination von Inosin in einer Endkonzentration von 40 mM mit Adenin und Guanosin in einer Endkonzentration von 1,0 mM (IAG) sowie Prednison 25 mg%ig.

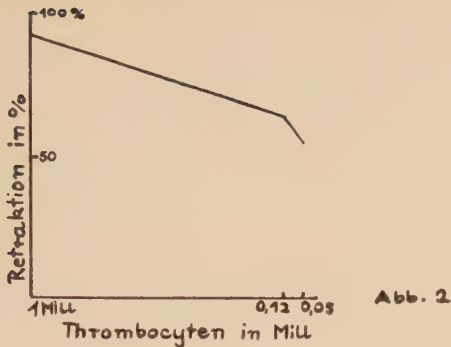
Die Verwendung von physiologischer NaCl-Lösung geschah nicht, um die Thrombocyten-erhaltende Wirkung der NaCl-Lösung zu prüfen, sondern um Vergleichswerte zu erhalten (Kontrolluntersuchungen).

Bei der Verwendung von ATP als Thrombocytenkonservierungsmittel gingen wir von der Tatsache aus, daß für alle Zellen zur Aufrechterhaltung ihrer Struktur und ihrer Funktionstüchtigkeit eine chemische Energiequelle vorhanden sein muß. Diese Forderung trifft auch für die Thrombocyten zu; denn die Annahme, daß es sich bei den Blutplättchen lediglich um Zellen mit nur geringem Zellstoffwechsel und geringem Energieverbrauch handelt, ist heute überholt.

So haben WALLER, LÖHR, GRIGNANI und GROSS (4) bei der Untersuchung des Energiestoffwechsels der Thrombocyten 1959 darauf hingewiesen, daß der Gehalt der Thrombocyten an energielieferndem ATP etwa 150 mal höher ist als der ATP-Gehalt der Erythrocyten, bezogen auf das Gesamtprotein der Zellen. Daß ATP das energieliefernde Substrat der Zelle ist, soll im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter erörtert werden.

Es besteht heute auch kein Zweifel mehr, daß die Thrombocyten für die Retraktion des Blutgerinnsels, also für einen energieverbrauchenden Vorgang verantwortlich sind. So konnten auch wir an Hand von Retraktionstesten nachweisen, daß eine Anzahl von funktionstüchtigen Thrombocyten für eine normale Retraktion in vitro erforderlich ist.

Die Abb. 2 zeigt die Retraktion (Ansatz: 3,0 ml phys. NaCl-Lösung, 1,0 ml thrombocytenfreies Citratplasma, 1,0 ml Thrombocytenkonzentrat, 1,0 ml M/40 CaCl_2 -Lösung und 0,1 ml Thrombin) in Abhängigkeit von der Anzahl der Thrombocyten.



Auf Anregung von Prof. Fischer (FISCHER, FERBER, FRITZSCHE, WOSEGIEN und SPIELMANN (14), Erythrocytenstoffwechsel und Blutkonservierung) versuchten wir, die von Fischer und Mitarbeitern zur Erythrocytenkonservierung verwendeten Purinnukleoside Adenin, Inosin und Guanosin auch zur Thrombocytenkonservierung zu verwenden. Es konnte von Fischer und Mitarbeitern gezeigt werden, daß der ATP-Gehalt eines Erythrocytenkonzentrates durch Zusatz einer Kombination aus Adenin, Inosin und Guanosin ganz wesentlich erhöht werden kann. Wie wir oben schon angedeutet haben, benötigen alle Zellen zur Aufrechterhaltung ihrer Struktur und ihrer Funktion ATP. Die Thrombocyten enthalten zudem noch wesentlich mehr ATP als die Erythrocyten. Allerdings nimmt der Gehalt an energiereichem Phosphat bei der Lagerung sehr rasch ab, wie GROSS (15) bei der Untersuchung des Stoffwechsels der Thrombocyten in ACD-Vollblutkonserven gezeigt hat.

Der Grund hierfür liegt nach Fischer darin, daß es mit zunehmender Lagerung und Säuerung in der Konserve zu einer völligen Blockierung der Hexokinase-reaktion kommt. Diese Reaktion ist aber für die Verwertung der energieliefernden Glukose in der Zelle verantwortlich. Kann die Glukose nicht mehr verwertet werden, kommt es dadurch zu einem Absinken des ATP-Spiegels.

Fischer und Mitarbeiter stellten sich nun die Frage, ob es nicht möglich ist, auch dann, wenn die Hexokinasereaktion blockiert ist, den Erythrocyten energiereiches Phosphat zuzuführen. Diese Fragestellung ergab sich auf Grund älterer Untersuchungen, denen zu Folge die Purinnukleoside Adenin, Inosin und Guanosin den Erythrocyten auch nach Blockierung der Hexokinasereaktion energiereiches Phosphat zuführen können.

Diese Möglichkeit besteht auf Grund der Tatsache, daß in den Erythrocyten ein Enzym, Purinnukleosidphosphorylase, vorhanden ist, welches die genannten Riboside spaltet.

Als Kriterium für eine ausreichende Energiezufuhr und für die damit erhalten gebliebene Funktionstüchtigkeit bei den Erythrocyten ist die Bestimmung der Hämolyse von entscheidender Bedeutung. Bei alten Erythrocyten kommt es zu einer gesteigerten Hämolyse auf Grund des Absinkens des ATP-Gehaltes. Gelingt es, alternden Erythrocyten energiereiche Substanzen zuzuführen, so kann man dadurch die Hämolyse verzögern und die Konservierungsdauer verlängern.

Diese Überlegungen im Zusammenhang mit der Tatsache, daß auch die Thrombocyten die vollständigen Stoffwechselketten der Glykolyse und des Pentosephosphatzyklus enthalten (GROSS und Mitarbeiter 4) ließen uns daran denken, mit Hilfe der obengenannten Purinnukleoside (IAG) die Thrombocyten über einen verhältnismäßig langen Zeitraum funktionstüchtig zu erhalten und damit die Dauer der Konservierbarkeit zu verlängern.

Cortisonpräparate sind aus der heutigen Therapie nicht mehr wegzudenken. Auch bei der Behandlung von thrombocytär bedingten Blutungen hat sich der Einsatz dieser Präparate bewährt. So berichtet KRUG (15) über einen Thrombocytenanstieg bei einer Thrombopenie von 50 000 bis auf 200 000 in einem Zeitraum von 7 Tagen unter der Behandlung mit 50 mg Prednison täglich.

Außerdem wird in der gleichen Arbeit über tierexperimentelle Untersuchungen berichtet, denen zu Folge es unter Verabreichung einer einmaligen Cortisondosis von 25 mg zu einer durchschnittlichen Erhöhung der Thrombocytenzahl von 59 % kommt. Die Ursache hierfür sieht KRUG in einer Stimulation der Thrombocyten bildenden Megakaryocyten. Dies würde also einer absoluten Erhöhung der Thrombocytenzahl entsprechen.

Es besteht nach unserer Auffassung auch die Möglichkeit, daß dieser die Thrombocytenzahl erhöhende Cortisoneffekt zu einer relativen Erhöhung der Thrombocytenzahl führt. Das heißt, die Thrombocytenproduktion wird durch Cortisonpräparate nicht gesteigert, sondern der Thrombocytenzerfall verzögert.

So haben H.FISCHER, H.ARGENTOL und W.FRITZSCHE (11) an Hand von Stoffwechseluntersuchungen verschiedener Zellen, unter anderem auch von Thrombocyten bewiesen, daß es unter Prednisoneinwirkung zu einer Herabsetzung von Atmung, Glykolyse und weiteren energieverbrauchenden Vorgängen kommt.

Auch ULSAMER (16) kam im Rahmen ihrer Dissertation zu dem Ergebnis, daß Erythrocyten, Leucocyten und Thrombocyten in vitro länger intakt bleiben, wenn ihnen Prednisolon zugesetzt worden war. Diese Untersuchungen und Ergebnisse veranlaßten uns, Cortisonpräparate bei der Thrombocytenkonservierung zu versuchen.

Prednisolon wirkt bei der Thrombocytenkonservierung wohl nicht als energieliefernder Faktor, sondern es kommt unter seiner Wirkung zu einer Herabsetzung des Zellstoffwechsels, zu einer Membranabdichtung (FISCHER 14) und dadurch zu einer Energieeinsparung. Durch diese Drosselung des Zellstoffwechsels könnte es möglich sein, die konservierten Thrombocyten in vitro eine Zeit lang funktionstüchtig zu erhalten. Nach der Transfusion können dann in vivo die Stoffwechselvorgänge mittels der eingesparten Energie wieder anlaufen und die Thrombocyten ihre Funktionen ausüben.

Außerdem versuchten wir im Rahmen dieser Arbeit ausfindig zu machen, in wie weit ein Funktionsunterschied zwischen konservierten Normalthrombocyten und konservierten Thrombocyten von Polycythämikern besteht. Bei der Durchsicht der entsprechenden Literatur fällt auf, daß über die Verwendung von Polycythämikerblut zur Herstellung von Thrombocytenkonserven die Meinungen sehr weit auseinander gehen. So vertreten MATTHES und SICKINGER (9) die Ansicht, daß Polycythämikerblut, dessen ohnehin schon hohe Thrombocytenzahl durch vorsichtiges Zentrifugieren noch weiter gesteigert werden kann, den besten Thrombocytenersatz darstellt.

Auf der anderen Seite stehen GROSS und Mitarbeiter (10) auf dem Standpunkt, daß Polycythämikerthrombocyten häufig mit funktionellen Defekten behaftet sind. Dadurch würde der durch die hohe Thrombocytenzahl bedingte Vorteil wieder wesentlich verringert. Außerdem werden von den gleichen Autoren auch ethische Bedenken gegen die Verwendung von Polycythämikerblut geltend gemacht.

Ergebnisse:

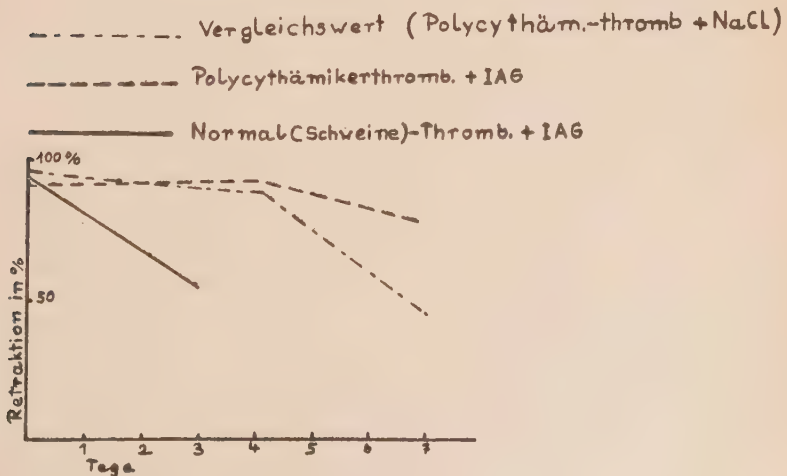
Unseren Ergebnissen wollen wir eine Umrechnungstabelle vorausschicken, wie wir sie für die Bestimmung der Retraktion verwendeten. Die bei der Retraktion ausgepreßte Flüssigkeit wird dabei in % angegeben.

Eine 100%ige Retraktion entspräche einer ausgepreßten Flüssigkeitsmenge von 6,1 ml, entsprechend dem Ansatz im Retraktionsröhrchen. (3,0 ml physiol. NaCl + 1,0 ml thrombocytenfreies Citratplasma + 1,0 ml Thrombocytenkonzentrat + 1,0 ml M/40 CaCl₂-Lösung + 0,1 ml Thrombinlösung).

6,10 ml	=	100%ige Retraktion
5,79 ml	=	95% "
5,49 ml	=	90% "
5,18 ml	=	85% "
4,88 ml	=	80% "
4,57 ml	=	75% "
4,27 ml	=	70% "
3,96 ml	=	65% "
3,66 ml	=	60% "
3,35 ml	=	55% "
3,05 ml	=	50% "
2,74 ml	=	45% "
2,44 ml	=	40% "

Einen eindeutigen Funktionsunterschied im Retraktionstest zeigt die Abb. 3. Untersucht wurden Polycythämikerthrombocyten, die mit IAG konserviert wurden und zur Kontrolle Normalthrombocyten, ebenfalls mit IAG konserviert.

Als Normalthrombocyten verwendeten wir bei einem Teil unserer Versuche frische Schweinethrombocyten.



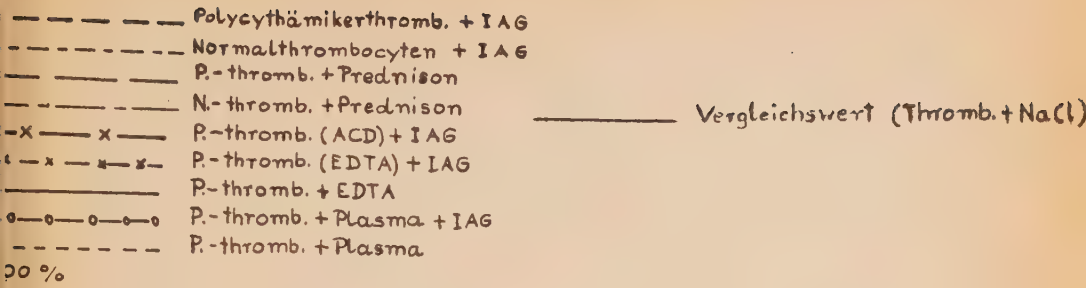
Wir haben im Rahmen dieser Arbeit 33 Thrombocytenkonserven untersucht und dabei 160 Retraktionsteste angesetzt.

20 Thrombocytenkonserven wurden aus Polycythämikerblut, 11 Konserven aus Normalblut und 2 Konserven aus Schweineblut hergestellt.

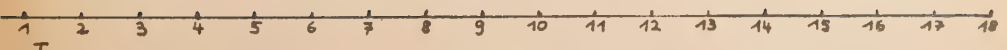
Die mit physiologischer NaCl-Lösung versetzten Thrombocytenkonserven, die als Kontrollen angesetzt wurden, dienten als Vergleichswerte. Ansätze ohne Thrombocyten durften keine Retraktion aufweisen (Leerwert).

Von den Thrombocytenkonserven wurden 16 mit IAG (Endkonzentration: Inosin 40 mM, Adenin und Guanosin 1,0 mM), 10 mit Prednison (Endkonzentration 25 mg%ig), 2 mit EDTA (Endkonzentration 0,1%), 2 mit thrombocytenfreiem Plasma und je eine mit ATP, Plasma + IAG und IAG + Prednison versetzt.

Es folgt nun zunächst eine Sammelkurve, in welcher der größte Teil unserer Ergebnisse zusammengefaßt wurde. Bei der Besprechung der einzelnen Konservierungsmittel kommen die Kurven noch einmal gesondert zu Darstellung.



Sammelkurve



Während es bei den Normalthrombocyten schon innerhalb von drei Tagen zu einer Verschlechterung der Retraktion um 38 % kommt, zeigen die Polycythämikerthrombocyten im gleichen Zeitraum noch keinerlei Verminderung ihrer Funktionstüchtigkeit. Eine verschieden große Anzahl von Thrombocyten als Ursache der unterschiedlichen Retraktion scheidet dabei aus. Der Ausgangswert betrug bei den Polycythämikerthrombocyten 800 000, bei den Normal- (Schweine)Thrombocyten 720 000. Am 3. Tag nach der Konservierung waren noch 540 000 Normalthrombocyten vorhanden; die Anzahl der Polycythämikerthrombocyten betrug am 4. Tag noch 648 000, am 7. Tag 420 000.

Zu dem gleichen Ergebnis sind wir bei unseren Untersuchungen immer wieder gekommen. In keinem Fall fanden wir funktionelle Defekte der Polycythämikerthrombocyten. Frische Thrombocyten von Polycythämikern zeigten eine stärkere Retraktion und behielten über einen längeren Zeitraum ihre Funktionstüchtigkeit in Konservenform.

Abb. 4 zeigt die Retraktionsteste von Polycythämiker- und Normalthrombocyten, beide mit Prednison versetzt. Hier betrug die Retraktion bei den Polycythämikerthrombocyten am 13. Tag nach der Blutentnahme noch 72 %.

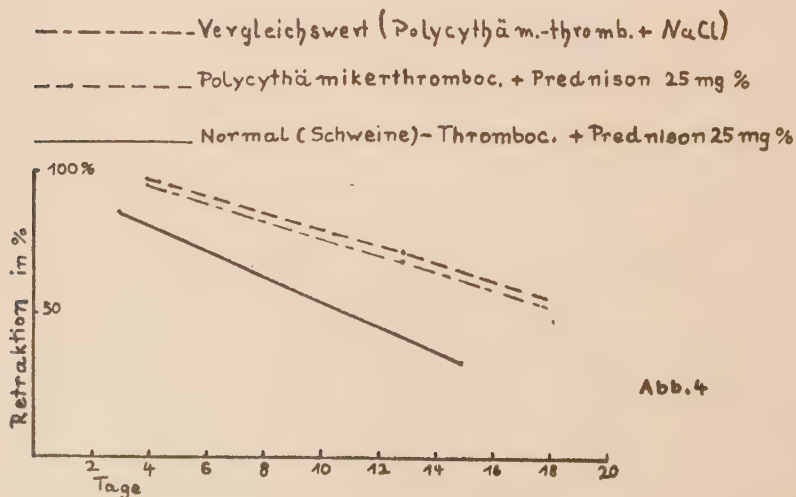


Abb. 4

Auch an Hand von Thrombelastogrammen konnten wir einen Funktionsunterschied zwischen Normal- und Polycythämikerthrombocyten feststellen. Im TEG mit Polycythämikerthrombocyten fanden wir eine kürzere Reaktionszeit r , eine kürzere Thrombusbildungszeit k sowie eine breitere Maximal-Kurvenamplitude ma .

Die Abb. 5a zeigt das TEG von drei Tage alten Normalthrombocyten. Im Gegensatz dazu zeigt die Abb. 5b das TEG von elf Tage alten Polycythämikerthrombocyten. Die Anzahl der Normalthrombocyten betrug 160 000, die der Polycythämikerthrombocyten 175 000. Der zahlenmäßige Unterschied von 15 000 Thrombocyten erklärt den deutlichen Unterschied des TEG nicht. Das von uns zur Herstellung von Thrombocytenkonserven verwendete Polycythämikerblut stammte von verschiedenen Spendern.

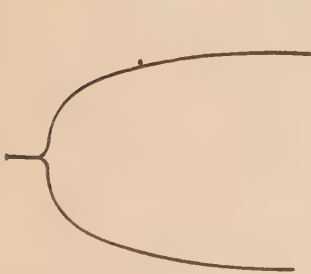


Abb. 5a

Normal-TEG

$r = 3'30''$

$k = 2'$

$ma = 40 \text{ mm}$

$m_E = 66$

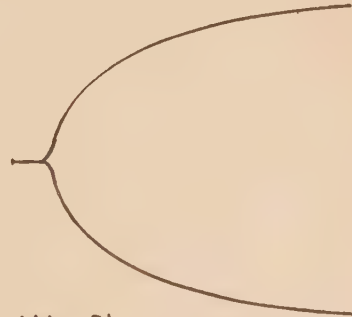


Abb. 5b

Polycythämiker-TEG

$r = 3'$

$k = 1'30''$

$ma = 57 \text{ mm}$

$m_E = 134$

Es sollen nun die Ergebnisse besprochen werden, die wir im Hinblick auf die Konservierungsdauer mit den von uns untersuchten Zusätzen erhielten.

Untersucht wurden folgende Lösungen:

Macrodex 6%ig, das Natriumsalz des Aethylendiamintetraacetats (EDTA, "Sequestren", "Komplexon"), ATP, eine Kombination von Inosin mit Adenin und Guanosin (IAG) und Prednison. Außerdem wurden zur Kontrolle Konserven mit physiologischer NaCl-Lösung angesetzt.

Macrodex ist als Konservierungsmittel ungeeignet, weil es die Retraktion völlig blockiert hat.

EDTA (Sequestren, Komplexon) wird von verschiedenen Autoren bei der Herstellung von Thrombocytenkonzentraten verwendet. So vertritt GROSS (10) auf Grund von Untersuchungen über die Probleme des Thrombocytenersatzes die Ansicht, daß EDTA am geeignetsten zur Thrombocytenengewinnung sei. Auch M.BALDINI, N.COSTEA und W.DAMESHEK (17) kamen zu dem Ergebnis, daß EDTA als Anticoagulans bei der Thrombocytenkonservierung dem ACD vorzuziehen ist.

R.MARX und S.DERLATH (18) berichten im Hinblick auf die Thrombocytenadhäsivität an blutfremden Oberflächen, daß die Klebrigkeit (Agglutinationstendenz) der Thrombocyten im Sequestrenblut immer geringer ist als im Citratblut.

K.BREDDIN und W.DONALIES (5) verwenden bei der Herstellung von Plättchenextrakten ebenfalls Komplexon in einer Endkonzentration von 0,1%. Auch für die Herstellung gewäschener Thrombocyten wird vom gleichen Verfasser Komplexon als Anticoagulans verwendet.

Auch wir verwendeten bei unseren Versuchen EDTA. Einmal als Anticoagulans bei der Herstellung der Blutkonserve, und zum anderen als Zusatz bei der Herstellung der Thrombocytenkonserve.

Das heißt also, daß ACD-Blut Thrombocyten wurde nach Anreicherung EDTA zugesetzt.

Bei der Verwendung als Antikoagulans haben wir keinen bemerkenswerten Unterschied zwischen ACD und EDTA feststellen können.

Abb. 6 zeigt die Retraktion von Thrombocyten, die aus ACD-Blut und EDTA-Blut gewonnen wurden. Als Konservierungsmittel diente in beiden Fällen IAG.

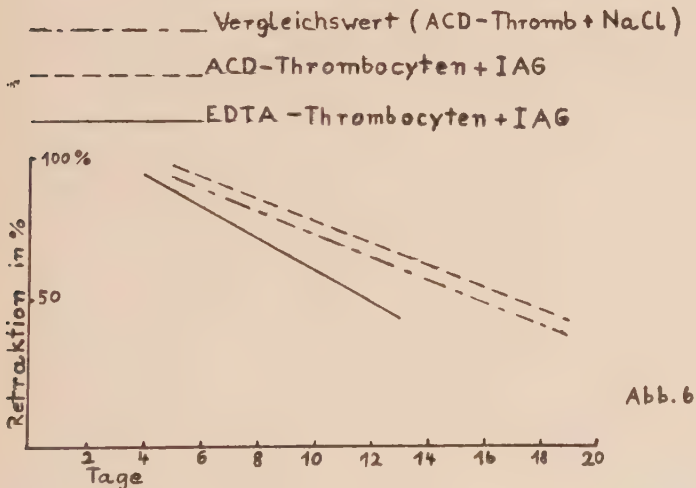
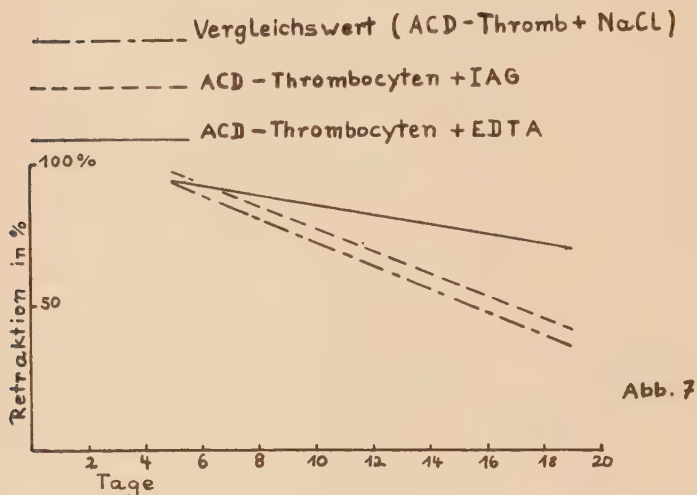


Abb. 6

Aus Abb. 7 geht hervor, daß ACD-Blut Thrombocyten, die mit EDTA versetzt wurden, noch am 19. Tag nach der Blutentnahme eine Retraktion von 70 % aufwiesen.

Die Thrombocytenzahl betrug am 5. Tag sowohl bei den EDTA, als auch bei den IAG-Thrombocyten 1 Million, am 19. Tag bei den EDTA-Thrombocyten 860 000, bei den IAG-Thrombocyten 800 000, war also unter Berücksichtigung der Fehlerbreite bei der Zählung annähernd gleich.

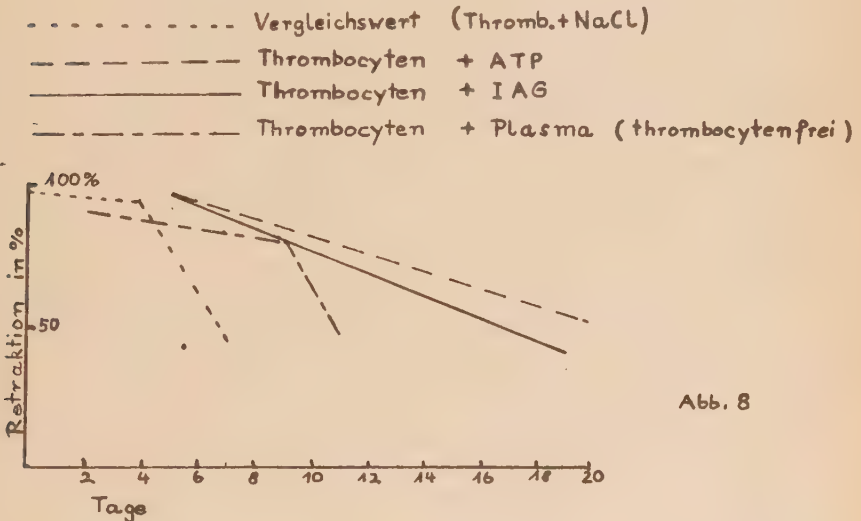
Die bessere Retraktion bei den EDTA-Thrombocyten ist wohl durch die besser erhalten gebliebene Funktion bedingt.



Bei den Untersuchungen über die Ausbreitungsfähigkeit der Thrombocyten ergab sich jedoch, daß die Ausbreitungsfunktion schon durch geringe Mengen von EDTA völlig unterbunden wird. Die Verwendung von EDTA bei der Herstellung von Thrombocytenkonserven dürfte daher für die Zukunft nicht zu empfehlen sein.

Ob ATP in der Lage ist, Thrombocyten in Konserven längere Zeit funktionstüchtig zu halten, können wir nicht mit Sicherheit sagen. Es wurden zu wenige Konserven mit ATP als Konservierungsmittel angesetzt, um zu einem klaren Ergebnis zu kommen.

Abb. 8 zeigt einen Retraktionstest einer Thrombocytenkonserve, die mit ATP konserviert wurde. Im Vergleich dazu der Retraktionstest einer IAG-Thrombocytenkonserve.



Obwohl bei diesem Versuch die ATP-Thrombocytenkonserve noch nach 20 Tagen eine etwas bessere Retraktion als die IAG-Konserve aufweist, können wir über die Verwendbarkeit von ATP als Thrombocytenkonservierungsmittel keine genaueren Angaben machen. Ein günstiger Effekt des ATP-Zusatzes erscheint uns auch wenig wahrscheinlich, da das zugesetzte ATP nur eine sehr kurze Haltbarkeit haben dürfte.

Die Überlegungen, die uns zur Heranziehung der Purinnucleoside Inosin, Adenin und Guanosin veranlaßten, haben wir weiter oben schon erwähnt. Es sollte untersucht werden, ob es möglich ist, mit Hilfe dieser Stoffe den intrazellulären ATP-Spiegel der Thrombocyten zu erhöhen. Daß die Blutplättchen einen sehr hohen energieliefernden ATP-Gehalt und Verbrauch haben, wurde ebenfalls schon erwähnt.

Auf Grund unserer Untersuchungen können wir sagen, daß IAG in der Lage ist, Thrombocyten über einen Zeitraum von 13 Tagen funktionstüchtig zu erhalten. Demgegenüber konnten Thrombocyten, die nur mit NaCl versetzt wurden, nur über einen Zeitraum von 10 Tagen erhalten werden. (Als Grenzwert wurde eine Retraktion von 70% festgelegt). Der Retraktionsabfall betrug im Durchschnitt nach 8 Tagen bei den mit IAG versetzten Thrombocyten 10%, dagegen bei den mit NaCl versetzten Thrombocyten 22%. (Siehe auch Sammelkurve).

Vor allem, wenn den Thrombocyten IAG + thrombocytenfreies Plasma zugesetzt wurde, haben wir am 13. Tag nach der Konservenherstellung noch eine Retraktion von 85% erzielt. (Siehe Abb. 9).

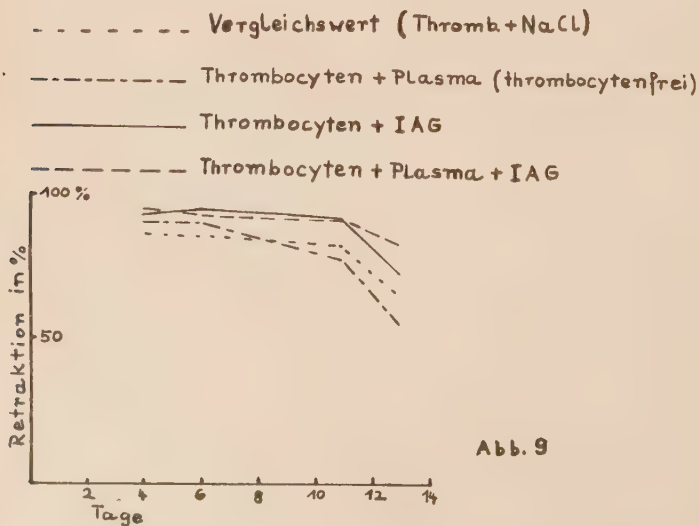


Abb. 9

Die alleinige Resuspension des Thrombocytenkonzentrates in thrombocytenfreiem Plasma ist als Konservierungsmaßnahme nicht geeignet, wie Abb. 10 zeigt.

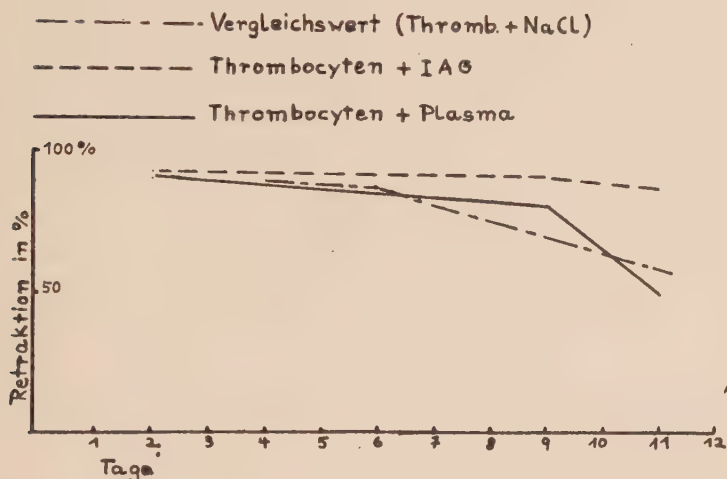


Abb. 10

Es soll hier noch einmal erwähnt werden, daß wir Inosin in einer Endkonzentration von 40 mM, Adenin und Guanosin in einer Endkonzentration von 1,0 mM verwendeten.

Nebenerscheinungen treten nach langsamer Infusion dieser Zusätze nicht auf. So hat MÜLLER (19) im Rahmen ihrer Dissertationsarbeit nachgewiesen, daß beim Nierengesunden nach der langsamen Infusion von 5 g Inosin außer einem Anstieg des Harnsäurespiegels für einige Stunden keine unangenehmen Nebenerscheinungen auftreten.

Nur beim Nierenkranken kam es nach der Infusion von Inosin zu einem länger anhaltenden Anstieg der Harnsäurewerte im Serum.

Wie wir weiter oben schon erwähnt haben, kommt es durch Zugabe von Prednison oder anderen Cortisonderivaten nicht zu einer Energiezufuhr, sondern zu einer Energieeinsparung.

Auf Grund dieser Überlegungen haben wir die Wirkung von Cortisonderivaten bei der Herstellung von Thrombocytenkonserven untersucht.

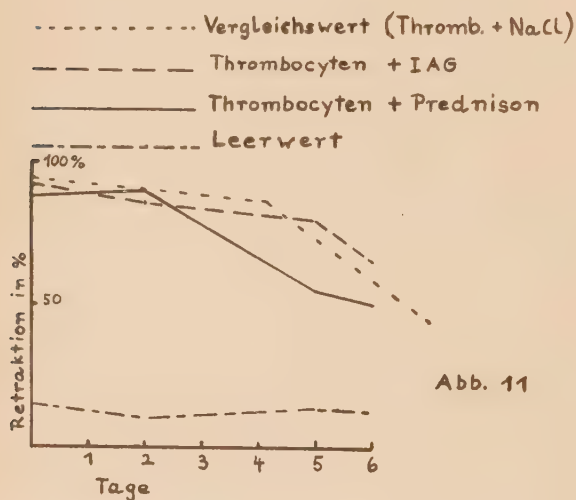


Abb. 11

Die Erhaltung der Retraktionsfunktion der Thrombocyten nach IAG-Zugabe war, wie aus Abb. 11 zu ersehen ist, besser als nach Zugabe von Prednison.

Der Grund hierfür liegt nach unserer Auffassung darin, daß die Thrombocyten zur Ausübung ihrer Funktion, vor allem der Retraktion, energiereiche Verbindungen benötigen. Diese nehmen bei der Lagerung sehr rasch ab. Es ist also eine Zufuhr von Substanzen, die den Energiespiegel der Thrombocyten erhalten, erforderlich. Diese Aufgabe können Cortisone nicht erfüllen.

Zusammenfassung:

Es wird über Versuche zur Thrombocytenkonservierung berichtet.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 33 Thrombocytenkonserven untersucht und dabei 160 Retraktionsteste angesetzt.

20 Thrombocytenkonserven wurden aus Polycythämikerblut, 11 Konserven aus Normalblut und 2 Konserven aus Schweineblut hergestellt.

Als Antikoagulans bei der Blutkonservenherstellung verwendeten wir ACD oder EDTA. Beide Substanzen eignen sich im Hinblick auf die Thrombocytenkonservierung gut, wenn man nur die Retraktionsfunktion berücksichtigt. Wegen der Hemmung der Ausbreitungsfunktion der Thrombocyten kann jedoch die Verwendung von EDTA nicht empfohlen werden.

Von den Thrombocytenkonserven wurden 16 mit IAG (Endkonzentration: Inosin 40 mM, Adenin und Guanosin 1,0 mM), 10 mit Prednison (Endkonzentration: 25 mg%ig), 2 mit thrombocytenfreiem Plasma und je eine mit ATP, Plasma + IAG und IAG + Prednison versetzt. Bei jedem Versuch wurden Ansätze nur mit Zusatz von physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. (Vergleichswerte).

Polycythämikerthrombocyten, die mit IAG versetzt, über einen Zeitraum von 8 Tagen gelagert wurden, (bei + 4°C), zeigten eine Retraktionsminderung von 10%. Demgegenüber betrug der Retraktionsabfall bei nur mit NaCl versetzten Konserven 22%. Die Zugabe von Prednison hatte einen geringeren Effekt als die Zugabe von IAG.

Gegenüber den Vergleichswerten mit NaCl zeigten die IAG-Thrombocytenkonserven eine leichte Verbesserung im Hinblick auf die Erhaltung ihrer Retraktionsfunktion.

Literatur:

- 1) A.Fonio, "Über die Wirkung des Hyalomers der Thrombocyten auf den Retraktionsvorgang". Acta haemat. VIII/1952, S.363-367.
- 2) E.F.Lüscher, "Thrombocytenfaktoren", Ergebn. d. Physiologie, Bd.50, S.1 (1959).
- 3) Bettex-Galland and E.F.Lüscher, Nature (London) 184, 276 (1959).
- 4) R.Gross, H.D.Waller, G.W.Löhr, F.Grignani, "Über den Energiestoffwechsel normaler menschlicher Thrombocyten," Thrombosis et Diathesis haemorrhagica, Vol. .III, No.5, (1959).
- 5) K.Breddin, W.Donalis, "Über den Einfluß von Thrombocyten-extrakten auf die Fibrinfestigkeit im Thrombelastogramm." Klin.Wo., 38, S.1116, (1960).
- 6) K.Breddin, "Hämorrhagische Diathesen bei Lebererkrankungen unter besonderer Berücksichtigung der Thrombocytenfunktion.
- 7) R.Jürgens, "Die Blutplättchen und ihre Bedeutung für Blutungsneigung und Thrombusbildung", Verhandlungen der Deutsch.Gesellschaft f.inn.Medizin. 58.Kongreß, 1952.
- 8) M.Stefanini, W.Dameshek, "Collection, Preservation and Transfusion of Platelets", The New England Journal of Medizini, Vol. 248, Number 19, May 1953.
- 9) M.Matthes, K.Sickinger, "Herstellung von Thrombocyten-konzentraten für Transfusionszwecke bei Verwendung verschiedener Dextranfraktionen", Acta haemat. 15, 278-295, (1956).
- 10) R.Gross, "Aktuelle Probleme des Thrombocytenersatzes", Bibl.haemat. Vol. 9, pp 92-102. (1959).
- 11) H.Fischer, H.Argenton und W.Fritzsche, "Über die Hemmung der unspezifischen Hämolyse, unter besonderer Berücksichtigung von Cortison", im Druck.
- 12) H.Hartert, "Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, physiol. und method. Grundlagen der Thrombelastographie", Dt.Arch.f.klin.Medizin, 199, S.284. (1952).

- 13) R.C.Hartmann, C.L.Conley, "Clot retraction as a measure of platelet function", Bull.Hopkings Hosp. 93, 355-369,(1953).
- 14) H.Fischer, E.Ferber, W.Fritzsche, F.Wosegien, W.Spielmann, "Erythrocytenstoffwechsel und Blutkonservierung, "Bibl.haemat., Vol.12, pp 76-93, (1961).
- 15) K.Krug, "Tierexperimentelle und klinische Befunde zur Frage der Cortisonwirkung auf die Thrombocytenzahl", Die Medizinische, Jahrgang 1959, Nr.36,S.1608-1610.
- 16) I.Ulsamer, Dissertation, Frankfurt/M, unveröffentlicht.
- 17) M.Baldini, N.Costea, W.Dameshek, "The Viability of stored human Platelets", BLOOD, Vol.XVI, No.6, 1960.
- 18) R.Marx und S.Derlath, "Über eine Methode zur vergleichend quantitativen Bestimmung der Thrombocytenadhäsivität an blutfremden Oberflächen unter gleichzeitiger Erfassung der relativen Blutviskosität", BLUT, Bd.III, S.247-254, 1957.
- 19) U.Müller, Dissertation, Frankfurt/M, unveröffentlicht.

E h r e n w ö r t l i c h e E r k l ä r u n g .

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der
Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotion
eingereichte Arbeit mit dem Titel

Untersuchungen über die Konservierung von
Thrombocyten mittels IAG und Prednison

in der I.Medizinischen Universitätsklinik
Frankfurt/Main

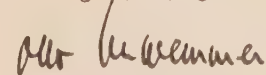
unter Leitung von Prof.Dr. Fischer
mit Unterstützung durch Dr. K.Breddin

ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der
Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der
Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in-und ausländischen
Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur
Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit
als Dissertation vorgelegt.

Münchberg / Ofr.

den 30.5.1963



(Otto Schwemmer)

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof.Dr. Burgeff, Prof.Dr. Kulenkampff, Prof.Dr. Autrum,
Prof.Dr. Wohlfahrt, Prof.Dr.Gößwald, Prof.Dr. Starck,
Prof.Dr. Ortmann, Prof.Dr. Czerny, Prof.Dr. Royen,
Prof.Dr. Wezler, Prof.Dr. Kramp, Prof.Dr. Frick, Prof.Dr.
Roka, Prof.Dr. Lauche, Prof.Dr. Holtz, Prof.Dr. Heintz,
Prof.Dr. Schrade, Prof.Dr. Fischer, Prof.Dr. Hoff,
Prof.Dr. Geißendörfer, Prof.Dr. Kühne, Prof.Dr. Naujocks,
Prof.Dr. Schwenzer, Prof.Dr. Cramer, Prof.Dr. Artelt,
Prof.Dr. Herzberg, Prof.Dr. Zutt, Prof.Dr. Thiel, Prof.Dr.
Jantz, Prof.Dr. Rajewsky, Prof.Dr. Siede, Prof.Dr. Hildebrand,
Prof.Dr. Boenninghaus, Prof.Dr. Steigleder, Prof.Dr. Betke,
Prof.Dr. Kahlau, Prof.Dr. de Kudder, Prof.Dr. Amelung,
Prof.Dr. Sandritter, Prof.Dr. Gans, Prof.Dr. Wiethold,
Prof.Dr. Spielmann, Prof.Dr. Schumann, Prof.Dr. v. Meckow,
Prof.Dr. Lennert.

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Dr.med. K.Bredden
für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, für seine
wertvollen Anregungen sowie für seine bereitwillige
Unterstützung bei allen meinen Arbeiten.

Lebenslauf:

Ich, Otto S c h w e m m e r, wurde am 13. Juli 1931 als viertes Kind des damaligen Funkangestellten Johann Schwemmer und seiner Ehefrau Margarete, geb. Pachtner, in Ansbach/Mittelfranken, geboren.

Von April 1938 bis Juli 1944 besuchte ich die Volksschulen in Nürnberg und Obernzenn/Mittelfranken.

Von Mai 1942 bis August 1943 konnte ich die Schule wegen schwerer Krankheit nicht besuchen. Im September 1944 wurde ich in die Oberschule Ansbach aufgenommen. Nach Übersiedlung meiner Eltern nach Bad Kissingen im Jahre 1946 besuchte ich das dortige Realgymnasium, an dem ich im Juni 1953 meine Schulausbildung mit der Reifeprüfung abschloß.

Anschließend studierte ich zwei Semester Naturwissenschaft an der Universität Würzburg. Ab Wintersemester 1954/55 studierte ich an der Universität Frankfurt Medizin. Das Physikum legte ich im Jahre 1956 ab, mit dem medizinischen Staatsexamen beendete ich 1960 mein Studium.

Meine Tätigkeit als Medizinal-Assistent begann ich an der Chirurgischen Universitätsklinik Frankfurt am Main. Seit Juni 1961 bin ich am Kreiskrankenhaus Münchberg/Oberfranken als Medizinal-Assistent tätig.

Otto Schwemmer

